

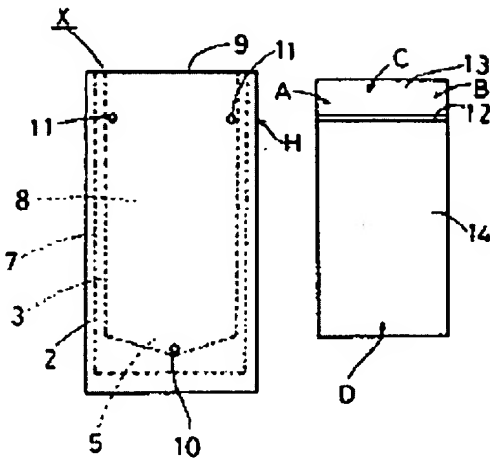
TWO-DIMENSIONAL ELECTROPHORESIS METHOD

Patent number: JP61288148
Publication date: 1986-12-18
Inventor: AKIYAMA JUNICHI; NISHINE TSUTOMU
Applicant: SHIMADZU CORP
Classification:
- international: G01N27/26; G01N27/447; G01N27/26; G01N27/447;
(IPC1-7): G01N27/26
- european:
Application number: JP19850130324 19850614
Priority number(s): JP19850130324 19850614

Report a data error here

Abstract of JP61288148

PURPOSE:To facilitate an operation of electrophoresis by providing an insulating zone between the gels of the 1st dimension and the 2nd dimension and executing the electrophoresis of the 1st dimension then replacing an insulating zone with a conductive zone and executing the electrophoresis of the 2nd dimension. CONSTITUTION:A surface plate 2 is provided via a spacer 3 on a substrate and a clearance space 8 is formed. The electrophoretic gel liquid of the 2nd dimension is injected through a through-hole 10 of the plate 2 into the space 8 and the gel 14 of the 2nd dimension is formed below the position H connecting through-holes 11, 11. The electrophoretic gel liquid of the 1st dimension is injected through an aperture 9 to form the gel 13 of the 1st dimension. The electrophoresis of the 1st dimension is executed by impressing a voltage between the electrodes A and B, then the insulating zone 12 is replaced with the conductive zone through the hole 11 and thereafter the voltage is impressed between the electrodes C and D to execute the electrophoresis of the 2nd dimension. Since the electrophoresis of the 2nd dimension is executed without taking out the gel of the 2nd dimension, the damage of the gel of the 1st dimension is eliminated.



Data supplied from the esp@cenet database - Worldwide

B3

Patent & Utility Model Concordance

MENU

SEARCH

NEWS

HELP

Document Number list

	1	2	3	4	5
Application Number	60-130324(1985)				
Unexamined Publication Number	JP,61-288148,A(1986)				
Examined Publication Number	JP,07-018840,B(1995)				
Registration Number	JP,1986931,B				

Please choose a Kind code with Display Type.

Kind code

Unexamined

Display Type

All Pages

List

Stored Data

⑫ 公開特許公報(A)

昭61-288148

⑪ Int.Cl.⁴
G 01 N 27/26識別記号 庁内整理番号
C-7363-2G

⑬ 公開 昭和61年(1986)12月18日

審査請求 未請求 発明の数 1 (全3頁)

⑭ 発明の名称 二次元電気泳動方法

⑮ 特 願 昭60-130324

⑯ 出 願 昭60(1985)6月14日

⑰ 発 明 者 秋 山 純 一 京都市中京区西ノ京桑原町1番地 株式会社島津製作所三
条工場内⑱ 発 明 者 西 根 勤 京都市中京区西ノ京桑原町1番地 株式会社島津製作所三
条工場内

⑲ 出 願 人 株式会社島津製作所 京都市中京区河原町通二条下ル一ノ船入町378番地

⑳ 代 理 人 弁理士 野河 信太郎

明 細 書

1. 発明の名称

二次元電気泳動方法

2. 特許請求の範囲

1. 一次元目の電気泳動用ゲルと二次元目の電気泳動用ゲルを絶縁帯を介して隣接させ、一次元目の電気泳動用ゲルにおいて一次元目の電気泳動をおこない、一次元目の電気泳動の終了後に絶縁帯を泳動可能材料よりなる導電帯に置換して両ゲルを実質的にかつ電気的に接続し、その状態において二次元目の電気泳動をおこなうことを特徴とする二次元電気泳動方法。

3. 発明の詳細な説明

(イ) 産業上の利用分野

この発明は二次元電気泳動方法に関する。

(ロ) 従来の技術

従来、二次元電気泳動においては、一次元目の電気泳動終了後に、一次元目のゲルをガラスチューブから押し出してフリーの状態にした後に移動させて二次元目のゲルの泳動開始側に接合してい

た。

(ハ) 発明が解決しようとする問題点

しかし、一次元目のゲルをチューブから取り出し、二次元目のゲルに正常な状態に接合するのには非常な熟練度を必要とし、一次元目のゲルはその操作時に容易に切断したり、伸延したり、折曲する問題があった。

この発明は上記の点に露みてなしたもので、一次元目のゲルを取り出すことなく次の二次元目の電気泳動をおこなうことができる方法を提供する。

(ニ) 問題点を解決するための手段

この発明は、一次元目、二次元目ゲル間に絶縁帯、導電帯を適宜介することにより、両ゲルを相対的な固定位置にとどめた状態において一次元目、二次元目の電気泳動をなすようにしたもので、そのさらに詳しい構成は、一次元目の電気泳動用ゲルと二次元目の電気泳動用ゲルを絶縁帯を介して隣接させ、一次元目の電気泳動用ゲルにおいて一次元目の電気泳動をおこない、一次元目の電気泳動の終了後に絶縁帯を泳動可能材料よりなる導電

帯に置換して両ゲルを実質的にかつ電気的に接続し、その状態において二次元目の電気泳動をおこなうことを特徴とする二次元電気泳動方法である。

(ホ) 作 用

絶縁帯の存在によって両ゲルが絶縁状態に保たれた状態において一次元目の電気泳動がなされ、導電帯の存在によって両ゲルが実質的にかつ電気的に接続された状態において二次元目の電気泳動がなされる。

(ハ) 実施例

以下この発明を図面によって詳述するが、この発明は以下の実施例に限定されるものではない。

まず第1図はこの発明に用いるゲルカセット(X)の分解構成を示し、第2図はその正面構成を示している。(1)が基板、(2)が表面板で、略同形の長方形形状である。基板(1)は熱伝導性材料よりなり、電気泳動時に発生する熱を逃がす、いわゆる冷却機能を果たすものである。表面板(2)としては適宜透明、不透明のプラスチック板を用い、表面板(3)と基板(1)とはスペーサ(3)を介して積層され、

図示していないが例えば万力のような固定具によって固定される。スペーサ(3)もプラスチック製で、両側部(4)(4)と傾斜凹部(5)を有する下部(6)とからなり、その前後面が基板(1)と表面板(2)間の両側部と下部の位置に当接する状態とされて介在される。(7)は基板(1)と表面板(2)とスペーサ(3)との密着性を高めるためのシール材であるシリコンラバーである。

上記のように基板(1)表面板(2)間にスペーサ(3)が介されることにより基板(1)と表面板(2)間には一定厚みを有する隙間空間(8)が形成される。

そして表面板(2)の上記隙間空間(8)の下端、すなわち、傾斜凹部(5)の最低部に対応する位置、さらには隙間空間(8)の上端の開口(9)より少し下方の両側に相対する位置にそれぞれ通孔(10)(11)が設けられている。

以下上記ゲルカセット(X)を使用してのこの発明の二次元電気泳動方法を説明する。

まず通孔(10)を通して例えばポンプの駆動によって隙間空間(8)内に二次元目の電気泳動用のゲルの

溶液を注入し、隙間空間(8)の通孔(11)を結ぶ位置(H)より下方に位置する一部分に二次元目の電気泳動用のゲル形成する。この二次元目の電気泳動用のゲルとしては、例えばポリアクリルアミド濃度勾配ゲルを用い、そのゲルはT(重量パーセント) = 15% ~ 5%、C(重量比) = 4%、縦長さ×横長さが160mm×160mm、厚さが0.5mmの平板状である。ゲル溶液の注入はその液面が上記位置(H)に達する10mm~20mm下のところで停止し、その後はゲル溶液より比重の大きい例えば60%グリセリン溶液を注入してさらに液面を高め位置(H)に至らす。この状態において傾斜凹部(5)に対応する隙間空間(8)にはグリセリン溶液が位置する。

上記の二次元目の電気泳動用のゲルの固化又はゲル化後通孔(11)を通して絶縁帯となる絶縁液を1mmの高さになるように注入する。この絶縁液としては四塩化炭素、ポリハロゲン炭素液が使用される。

この絶縁液層上にさらに上端開口(9)を通して一

次元目の電気泳動用のゲルの溶液を注入する。この一次元目の電気泳動用のゲルとしては、同じくポリアクリルアミド濃度勾配用ゲルを用い、そのゲルはT = 5.5%、C = 4%、アンフォライン(LKB社) 4%、サイズ 5×160mm、厚さ 0.5mmの平板状である。

上記のようにして第3図に示すような、約1mmの絶縁液(12)層をはさんで上下に一次元目の電気泳動用ゲル(13)と二次元目の電気泳動用ゲル(14)が配置されたゲル体がゲルカセット(X)内に構成され、絶縁液(12)層を備える故に両ゲル(13)(14)は互いに電気的に影響を受けない。

この状態において上記ゲル体のA・Bに示す位置の電極間に電圧が印加され、一次元目の電気泳動用ゲルの所定位置に配置されたサンプルにおける一次元目の電気泳動がなされる。

そしてその泳動終了後に通孔(11)を通して絶縁液(12)が抜かれ、そこに残る線状空間に溶解したアガロースを注入し、固めて導電帯を形成する。アガロースは導電性で蛋白質を通すので、この状態

において、一次元目の電気泳動用ゲル(1)と二次元目の電気泳動用ゲル(2)とが実質的にかつ電気的に接続された状態となる。そして次にC・Dに示す位置の電極間に電圧が印加されて二次元目の電気泳動がなされる。二次元目の電気泳動終了後に表面板(12)を取り外し分析結果を判別すべくゲルの染色をおこなう。

上記のアガロースに代えて例えばトリス・アミノメタンバッファー(pH 8.6)を使用してもよいが、液層は3mm以下、適切には1mmとする。

なお、電極は実際には当然のことながらゲルカセット(X)のゲルの所定位置に相対する部分に適宜形成する。

(ト) 発明の効果

この発明は上述のように構成されていて、一次元目の電気泳動用のゲルを取り出すことなく二次元目の電気泳動用のゲルに接合できるので、従来のように一次元目の電気泳動用のゲルの損傷の心配もなく、非常に操作性に優れる。

4. 図面の簡単な説明

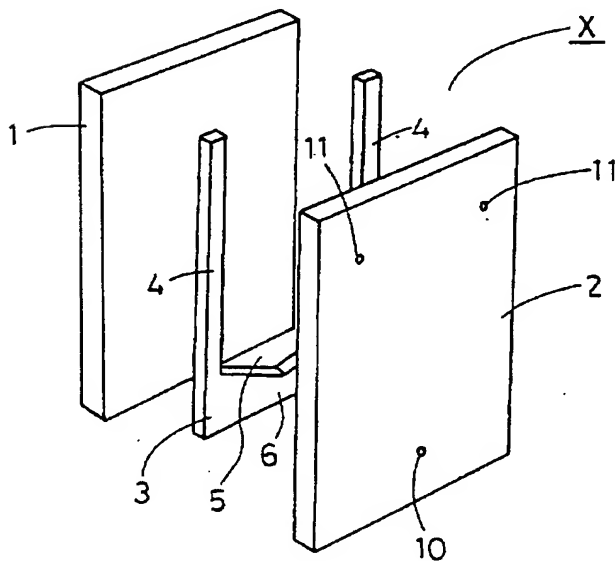
第1図はこの発明に用いるゲルカセットの実施例分解斜視図、第2図は実施例正面図、第3図はゲルカセット内に形成されるゲル体の実施例正面図である。

(X) ……ゲルカセット、 (1) ……基板、
(2) ……表面板、 (3) ……スペーサ、
(4) ……縁間空間、 (5)(6)(7) ……通孔。

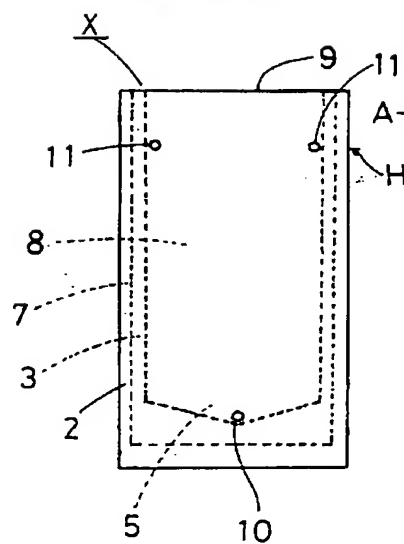
代理人 弁理士 野 河 信 太



第 1 図



第 2 図



第 3 図

